

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-265456

(43) 公開日 平成10年(1998)10月6日

(51) Int.Cl.⁸

C 0 7 D 207/16

A 6 1 K 31/40

識別記号

ABE

ABG

AED

F I

C 0 7 D 207/16

A 6 1 K 31/40

ABE

ABG

AED

審査請求 未請求 請求項の数7 OL (全 8 頁)

(21) 出願番号

特願平9-74780

(22) 出願日

平成9年(1997)3月27日

(71) 出願人 000177634

参天製薬株式会社

大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号

(72) 発明者 三田 四郎

大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号 参天製薬株式会社内

(72) 発明者 堀内 正人

大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号 参天製薬株式会社内

(74) 代理人 弁理士 岸本 瑛之助 (外3名)

最終頁に続く

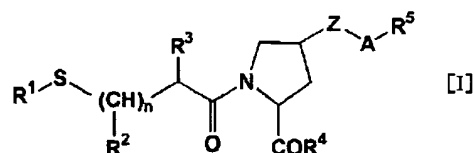
(54) 【発明の名称】 ロイコトリエンA₄ヒドロラーゼ阻害剤

(57) 【要約】

【課題】 ロイコトリエンA₄ヒドロラーゼ阻害剤を提供する。

【解決手段】 式[I]の化合物またはその塩類を有効成分とするロイコトリエンA₄ヒドロラーゼ阻害剤。

【化1】



R¹はH、アルキル、フェニルアルキル、アルカノイル、ベンゾイルを、R²、R³はH、アルキルを、R⁴はOH、アルコキシ、フェニルアルコキシ、アミノ、アルキルアミノ、フェニルアルキルアミノを、R⁵はフェニルアルキル、ナフチルアルキルを、ZはS、Oを、Aはアルキレンを、nは0、1、2を示す。R¹中のフェニル環はアルキル、アルコキシ、ハロゲンで、R⁵中のフェニル環、ナフチル環はアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アルキルチオ、ハロゲンで置換されてもよ

USSN 10/698,354

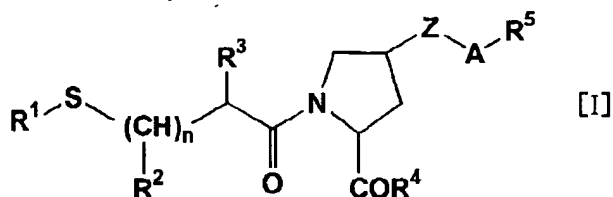
PC25373

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記一般式(I)で表される化合物またはその塩類を有効成分とするロイコトリエンA₄ ヒドロラ

ーゼ阻害剤。

【化1】



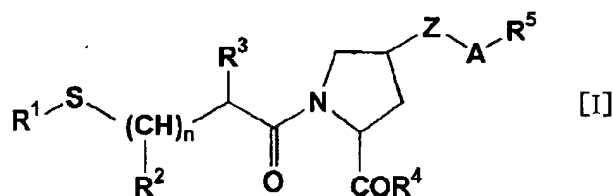
【式中、R¹ は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示し、該フェニル低級アルキル基および該ベンゾイル基のフェニル環は低級アルキル基、低級アルコキシ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。R² および R³ は水素原子または低級アルキル基を示す。R⁴ はヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基を示す。R⁵ はフェニル基またはナフチル基を示し、該フェニル基のフェニル環および該

ナフチル基のナフチル環は低級アルキル基、シクロ低級アルキル基、低級アルコキシ基、低級アルキルチオ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。Zは硫黄原子または酸素原子を示す。Aは低級アルキレン基を示す。nは0、1または2を示す。】

【請求項2】 下記一般式(I)で表される化合物またはその塩類を有効成分とするロイコトリエンA₄ ヒドロラ

ーゼ阻害剤。

【化2】



【式中、R¹ は水素原子、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示す。R² および R³ は水素原子または低級アルキル基を示す。R⁴ はヒドロキシ基または低級アルコキシ基を示す。R⁵ はフェニル基またはナフチル基を示し、該フェニルのフェニル環は低級アルキル基、シクロ低級アルキル基、低級アルコキシ基または低級アルキルチオ基に置換されていてもよい。Zは硫黄原子または酸素原子を示す。Aは低級アルキレン基を示す。nは1を示す。】

【請求項3】 (4S)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン、(4S)-4-(4-tert-ブチルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリ

ン若しくは(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリンまたはそれらの塩類を有効成分とするロイコトリエンA₄ ヒドロラ

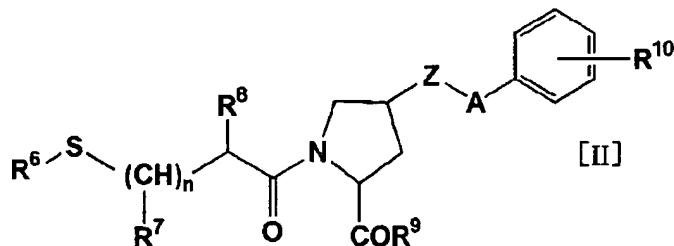
ーゼ阻害剤。

【請求項4】 請求項1記載の一般式(I)で示される化合物またはその塩類を有効成分とする炎症性疾患治療剤。

【請求項5】 請求項1記載の一般式(I)で示される化合物またはその塩類を有効成分とする抗リウマチ治療剤。

【請求項6】 下記一般式(II)で表される化合物およびその塩類。

【化3】



【式中、R⁶ は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示し、該フェニル低級アルキル基および該ベンゾイル基のフェニル環は低級アルキル基、低級アルコキシ基

またはハロゲン原子で置換されていてもよい。R⁷ および R⁸ は水素原子または低級アルキル基を示す。R⁹ はヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル

低級アルキルアミノ基を示す。R¹⁰はシクロ低級アルキル基を示す。Zは硫黄原子または酸素原子を示す。Aは低級アルキレン基を示す。nは0、1または2を示す。]

【請求項7】 (4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリンおよびその塩類。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はメルカプトアシルプロリン誘導体を有効成分とするロイコトリエンA₄ ヒドロラーゼ阻害剤に関するものであって、特にリウマチ等の炎症性疾患の治療剤として有用な薬物を提供するものである。

【0002】

【従来の技術】エポキシドヒドロラーゼの一つであるロイコトリエンA₄ (以下、LTA₄ と略記する) ヒドロラーゼは、活性中心に亜鉛を必要とする金属含有酵素である。

【0003】LTA₄ ヒドロラーゼは、LTA₄ から強力な前起炎物質であるロイコトリエンB₄ (以下、LTB₄ と略記する) への生化学的変換の触媒的役割を果たす。

【0004】LTB₄ は5-リポキシゲナーゼ経路中において生成するアラキドン酸代謝物で、肥満細胞、好中球、単球、マクロファージ等を含む種々の細胞で生合成され、炎症の重要なメディエーターとしての役割を担っている。LTB₄ は白血球の走化性、凝集、脱顆粒および多形核白血球の蓄積を誘導し、血管透過性および浮腫形成を亢進させる。そのため、炎症性疾患、例えば、リウマチ(J. Clin. Invest., 66, 116-117 (1980))、乾癬(Br. J. Pharmacol., 83, 313-317 (1984))、炎症性腸疾患(Gastroenterology, 86, 453-460 (1984))、痛風(Lancet, 2, 1122-1124 (1982))の病変部および嚢胞性線維症の喀痰中(Lancet, 342, 465-469 (1993))には、特に高レベルのLTB₄ が検出されているこ

とが報告されている。

【0005】したがって、LTA₄ ヒドロラーゼを阻害する化合物は、LTB₄ の生成を防止し、リウマチ等の炎症性疾患に対して治療効果を発現すると期待される。

【0006】本発明の有効成分であるメルカプトアシルプロリン誘導体はACE阻害作用を有する血圧降下剤として米国特許出願4316906号明細書またはJ. Med. Chem., 31, 875-885 (1988)で報告されている。しかしながら、それらのメルカプトアシルプロリン誘導体のプロリン骨格の4位に置換基を有する化合物のLTA₄ ヒドロラーゼ阻害作用に関する報告はない。尚、プロリン骨格の4位に(シクロ低級アルキルフェニル)アルキルグループを有する化合物は文献未知の新規化合物である。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】上記のように、メルカプトアシルプロリン誘導体はACE阻害作用を有し血圧降下剤として有用であることが知られているが、それらの化合物の新たな医薬用途を見いだすことは非常に興味のある課題であった。

【0008】

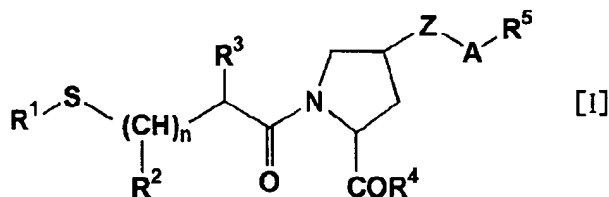
【課題を解決するための手段】本発明者等は、公知のメルカプトアシルプロリン誘導体および新規に合成研究したメルカプトアシルプロリン誘導体についての新たな医薬用途を見いだすべく研究した結果、それらの化合物が優れたLTA₄ ヒドロラーゼ阻害活性を示すことを見いだした。

【0009】

【発明の実施の形態】本発明は、下記一般式[I]で表される化合物またはその塩類(以下、本化合物とする)を有効成分とするLTA₄ ヒドロラーゼ阻害剤および下記一般式[I]で示される新規化合物またはその塩類に関するものである。

【0010】

【化4】



【0011】[式中、R¹ は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示し、該フェニル低級アルキル基および該ベンゾイル基のフェニル環は低級アルキル基、低級アルコキシ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。

【0012】R² およびR³ は水素原子または低級アルキル基を示す。

【0013】R⁴ はヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基を示す。

【0014】R⁵ はフェニル低級アルキル基またはナフチル低級アルキル基を示し、該フェニル低級アルキル基のフェニル環および該ナフチル低級アルキル基のナフチル環は低級アルキル基、シクロ低級アルキル基、低級アルコキシ基、低級アルキルチオ基またはハロゲン原子で

置換されていてもよい。

【0015】Zは硫黄原子または酸素原子を示す。

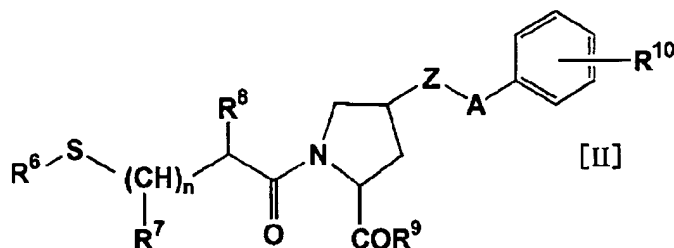
【0016】Aは低級アルキレン基を示す。

【0017】nは0、1または2を示す。以下、同

じ。]

【0018】

【化5】



【0019】[式中、R⁶ は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示し、該フェニル低級アルキル基および該ベンゾイル基のフェニル環は低級アルキル基、低級アルコキシ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。

【0020】R⁷ およびR⁸ は水素原子または低級アルキル基を示す。

【0021】R⁹ はヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基を示す。

【0022】R¹⁰はシクロ低級アルキル基を示す。

【0023】Zは硫黄原子または酸素原子を示す。

【0024】Aは低級アルキレン基を示す。

【0025】nは0、1または2を示す。以下、同じ。]

【0026】上記で規定した基をさらに詳細に説明する。低級アルキルとはメチル、エチル、プロピル、ブチル、ヘキシル、イソブチル等の炭素原子が1～6個の直鎖または分枝の低級アルキルを示す。低級アルカノイルとはアセチル、プロピオニル、ブチリル、ヘキサノイル、イソブチリル、ヒバロイル等の2～6個の炭素原子を有する直鎖または分岐のアルカノイルを示す。低級アルコキシとは、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、ヘキシルオキシ等の炭素原子が1～6個の直鎖または分枝の低級アルコキシを示す。シクロ低級アルキルとは、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル等の炭素原子が3～8個の炭素原子を有する環状のシクロ低級アルキルを示す。ハロゲン原子とは、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を示す。低級アルキレンとは、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン等の炭素数1～6の直鎖または分岐の低級アルキレンを示す。

【0027】上記化合物の好ましい例として下記のものが挙げられる。

【0028】・上記一般式(I)においてR¹ が水素原子、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を、特に好ましくは水素原子を示す化合物またはその塩類。

【0029】・上記一般式(I)においてR² が水素原子または低級アルキル基を、特に好ましくは水素原子を示す化合物およびその塩類。

【0030】・上記一般式(I)においてR³ が水素原子または低級アルキル基を、特に好ましくはメチル基を示す化合物およびその塩類。

【0031】・上記一般式(I)においてR⁴ がヒドロキシ基または低級アルコキシ基を、特に好ましくはヒドロキシ基を示す化合物およびその塩類。

【0032】・上記一般式(I)においてR⁵ が低級アルキル基、シクロ低級アルキル基、低級アルコキシ基もしくは低級アルキルチオ基に置換されてもよいフェニル基またはナフチル基を、より好ましくは低級アルキル基またはシクロ低級アルキル基に置換されてもよいフェニル基を、特に好ましくは、イソプロピルベンジル基、tert-ブチルベンジル基またはシクロヘキシル基に置換されてもよいフェニル基を示す化合物およびその塩類。

【0033】・上記一般式(I)においてZが硫黄原子または酸素原子を示し、特に好ましくは硫黄原子を示す化合物およびその塩類。

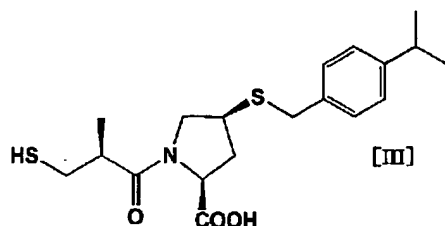
【0034】・上記一般式(I)においてAが低級アルキレン基を示し、特に好ましくはメチレン基を示す化合物およびその塩類。

【0035】・上記一般式(I)においてnが0、1または2を示し、特に好ましくは1を示す化合物およびその塩類。

【0036】特に好ましい化合物の具体例として下記式[III]、[IV]および[V]で示される(4S)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン、(4S)-4-(4-tert-ブチルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン若しくは(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリンまたはそれらの塩類が挙げられる。

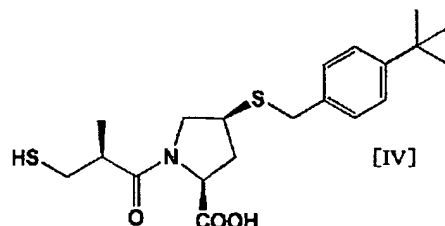
【0037】

【化6】



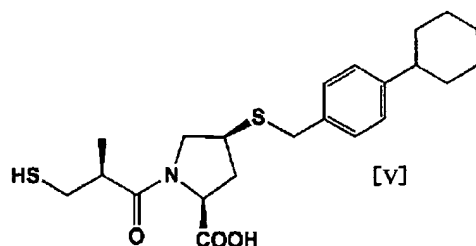
【0038】

【化7】



【0039】

【化8】



【0040】上記一般式(II)で示される新規化合物の好ましい化合物の例として下記のものが挙げられる。

【0041】・上記一般式(II)においてR⁶が水素原子、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を、特に好ましくは水素原子を示す化合物およびその塩類。

【0042】・上記一般式(II)においてR⁷が水素原子、低級アルキル基を、特に好ましくは水素原子を示す化合物およびその塩類。

【0043】・上記一般式(II)においてR⁸が水素原子、低級アルキル基を、特に好ましくはメチル基を示す化合物およびその塩類。

【0044】・上記一般式(II)においてR⁹がヒドロキシ基または低級アルコキシ基を、特に好ましくはヒドロキシ基を示す化合物およびその塩類。

【0045】・上記一般式(II)においてR¹⁰がシクロ低級アルキル基を、特に好ましくはシクロヘキシル基を示す化合物およびその塩類。

【0046】・上記一般式(II)においてZが硫黄原子または酸素原子を示し、特に好ましくは硫黄原子を示す化合物およびその塩類。

【0047】・上記一般式(II)においてAが低級アルキレンを示し、特に好ましくはメチレン基を示す化合物およびその塩類。

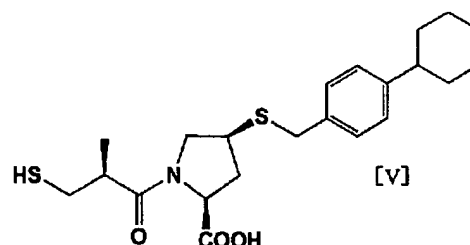
【0048】・上記一般式(II)においてnが0、1または2を示し、特に好ましくは1を示す化合物およびその

塩類。

【0049】特に好ましい化合物の具体例として下記式(V)で示される(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリンおよびその塩類が挙げられる。

【0050】

【化9】



【0051】上記の塩類とは、医薬として許容される塩類であればよく、例えば塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、シュウ酸塩、メタンスルホン酸塩、パラトルエンスルホン酸塩等が挙げられる。また、上記化合物にはジアステレオ異性体および光学異性体が存在するが、それらはすべて本発明に含まれる。さらに上記化合物は溶媒和、例えば水和物、エタノール和物等の形態をとっていてもよい。

【0052】一般式(I)で表されるメルカプトアシルプロリン誘導体(以下、本化合物という)の有用性を調べるべく、それらのLTA₄ヒドロラーゼに対する作用を検討した。詳細については後述の薬理試験の項で示すが、基質としてLTA₄を用い酵素反応で生じるLTA₄量を指標として検討した結果、本化合物はLTA₄ヒドロラーゼに対し強い阻害活性を示した。このことから、本化合物はLTA₄が関与する幅広い疾患、特にリウマチ、乾癬、炎症性腸疾患、痛風、嚢胞性線維症等の炎症性疾患の治療に有用であることが期待される。

【0053】薬理試験の結果として、一般式(I)で表される化合物の内、R¹が水素原子、R⁴がヒドロキシ基で示される化合物、いわゆる活性本体についてののみ例示したが、これらの化合物は勿論プロドラッグの形態でも投与できる。したがって、R¹が、メルカプト基の保護基として汎用されるグループ、即ち、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基である化合物も本発明に包含されることはいうまでもない。また、カルボキシ基においてもエステルやアミドの形に変換してプロドラッグとする技術が汎用されており、R⁴が低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基で示される化合物も勿論本発明に包含される。

【0054】本化合物は経口でも、非経口でも投与することができる。投与剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、注射剤等が挙げられ、汎用されている技

術を用いて製剤化することができる。例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等の経口剤であれば、乳糖、結晶セルロース、デンプン、植物油等の増量剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロース、カルシウム、低置換ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の崩壊剤、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴール、シリコン樹脂等のコーティング剤、ゼラチン皮膜剤などを必要に応じて加えればよい。

【0055】本化合物の投与量は症状、年齢、剤型等によって適宜選択できるが、経口剤であれば通常1日あたり0.1～5000mg、好ましくは1～1000mgを1回または数回に分けて投与すればよい。

【0056】

【発明の実施の形態】以下に、本発明の製造例および本発明の薬理試験の結果を示すが、これらの例は本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

【0057】

【実施例】

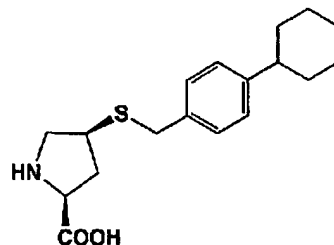
【製造例】

参考例1

(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-L-プロリン

ロリン(参考化合物1)

【化10】



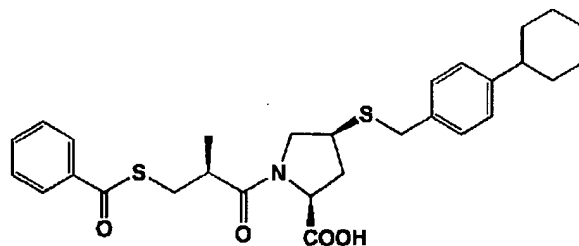
【0058】(4S)-4-メルカプト-L-プロリン塩酸塩(300mg)に2N水酸化ナトリウム(1.6ml)を加え0℃で攪拌する。これに4-シクロヘキシルベンジルクロリド(340mg)のエタノール(5ml)/クロロホルム(1ml)混合溶液を加え室温で一晩攪拌する。反応液を減圧濃縮し析出した結晶をろ別する。結晶を水、エタノールおよびジエチルエーテルの順で洗浄し、標記化合物470mg(91%)を得る。

【0059】mp 208.9～210.3℃

【0060】実施例1

1-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-(4S)-4-(4-シクロヘキシルベンジルチオ)-L-プロリン(化合物1)

【化11】



【0061】(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-L-プロリン(430mg)にジメチルホルムアミド(4.5ml)を加え、混合物を0℃に冷却する。トリエチルアミン(0.21ml)と(2S)-3-(ベンゾイルチオ)-2-メチルプロピオン酸(4-ニトロフェニル)エステルを順次加え、混合液を室温で一晩攪拌する。これに10%クエン酸水溶液を加え酢酸エチルで抽出し、有機層を水と飽和食塩水で順次洗浄後、硫酸ナトリウムで乾燥する。減圧濃縮により得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、標記化合物580mg(81%)をアモルファスとして得る。

【0062】 $[\alpha]_D^{20}$ -73.4° (c=0.5, メタノール)

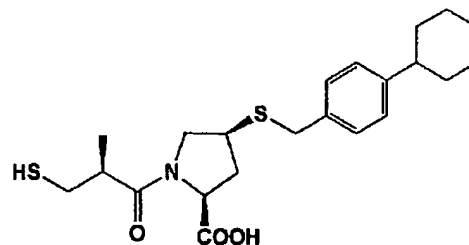
IR (Film, cm^{-1}) 2924, 1744, 1659, 1447, 1207, 915, 755, 689

【0063】実施例2

(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]

ル]-L-プロリン(化合物2)

【化12】



【0064】窒素雰囲気下、1-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-(4S)-4-(4-シクロヘキシルベンジルチオ)-L-プロリン(500mg)に28%アンモニア水(9ml)を加え、室温で一時間攪拌する。反応液に酢酸エチルを加え水で抽出する。水層を0℃に冷却し6N塩酸を加えpH2とし、酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮により得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、標記化合物340mg(87%)をアモルファス

として得る。

【0065】 $[\alpha]_D^{20} -50.4^\circ$ ($c=0.5$, メタノール)

IR (Film, cm^{-1}) 2924, 1736, 1641, 1612, 1463, 1446, 756

【0066】尚、上記製造例の原料として用いた(4S)-4-メルカプト-L-プロリン塩酸塩はJ. Org. Chem., 46, 4182-4187 (1981)に、(2S)-3-(ベンゾイルチオ)-2-メチルプロピオン酸(4-ニトロフェニル)エステルは特開平8-301840号公報に記載されている。

【0067】[薬理試験] LTA_4 ヒドロラーゼ活性の測定法として、基質として LTA_4 を用い、酵素反応で生じる LTB_4 量を測定することで酵素活性を測定する Izumi らの方法が知られている (Biochem. Biophys. Res. Commun., 135, 139-145 (1986))。そこで、この文献に記載された方法に準じて、本化合物の LTA_4 ヒドロラーゼへの作用を検討した。

【0068】(実験方法) 酵素標品としては、Izumi らの方法 (Biochem. Biophys. Res. Commun., 135, 139-145 (1986)) および Evans らの方法 (Biochem. Biophys. Acta, 840, 43-50 (1985)) に準じて、以下の方法によりモルモット肺から粗抽出したものをを用いた。

【0069】Hartley 系モルモット (体重330g) から肺を摘出し、氷冷下、肺重量の3倍量のリン酸緩衝液 (50mM, pH7.4, 1mMのエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) および1mMのジチオトレイトール (DTT) を含む) 中でホモジナイズした後、20分間低速遠心 (800×g)、20分間高速遠心 (10000×g) さらに60分間超遠心 (100000×g, 60分) して上清を得た。氷冷下、この上清を、これに飽和硫酸アンモニウム水溶液 (pH7.0~7.2, 1mMのDTTを含む) を滴下することによって、40%飽和とした後、20分間高速遠心 (10000×g) し

た。さらにその上清を、これに飽和硫酸アンモニウム水溶液 (pH7.0~7.2, 1mMのDTTを含む) を滴下することによって、70%飽和とした後、20分間高速遠心 (10000×g) した。得られたペレットをトリス-酢酸緩衝液 (20mM, pH7.8, 1mMのDTTを含む) 2mlに溶解し、2リットルの同溶液中で透析することにより酵素標品を得た。

【0070】基質である LTA_4 は、 LTA_4 メチルエステルを加水分解することにより調製し、エタノールに溶解したものをを用いた。

【0071】次に、被験化合物の酵素標品への作用を検討するため、表1の組成の混合溶液を用いて下記の反応条件で反応させた。

【0072】

【表1】

ヘブス緩衝液	50mM, pH7.8
酵素標品	0.4~0.6mg たん白
LTA_4	63μM
DTT水溶液	3mM
被験化合物	$10^{-8} \sim 10^{-3} \text{M}$

【0073】上記溶液50μlを37℃で1分間インキュベーションした。氷冷下、反応液にアセトニトリル-エタノール-酢酸混合液 (150:50:3, 容積比) 100μlを加え、-20℃で30分間放置した後、5分間高速遠心 (10000×g) して上清を得た。その上清中の LTB_4 生成量を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。

【0074】被験化合物の LTA_4 ヒドロラーゼに対する阻害作用の程度は、下記の式より求めた阻害率で示す。

【0075】

【式1】

$$\text{阻害率 (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A: 被験化合物非存在下での LTB_4 生成量

B: 被験化合物存在下での LTB_4 生成量

(結果) 被験化合物の代表例として以下の化合物を用いた実験結果を表2に示す。

【0076】化合物a: 1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-(4S)-4-(2-メチルベンジルチオ)-L-プロリン

化合物b: (4S)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン

化合物c: (4S)-4-(4-イソプロピルフェネチルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン

化合物d: (4R)-4-(4-イソプロピルベンジル

チオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン

化合物e: (4R)-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン

化合物f: (4S)-4-(4-tert-ブチルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン

化合物g: 1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-(4S)-4-[4-(メチルチオ)ベンジルチオ]-L-プロリン

化合物h: (4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン

【0077】結果はLTA₄ ヒドロラーゼ活性を50%阻害するのに要した濃度 (IC₅₀) として表した。

【0078】

【表2】

	IC ₅₀ (M)
化合物 a	8.4×10^{-7}
化合物 b	5.2×10^{-8}
化合物 c	7.9×10^{-7}
化合物 d	2.9×10^{-7}
化合物 e	8.0×10^{-7}
化合物 f	3.1×10^{-8}
化合物 g	1.2×10^{-7}
化合物 h	3.4×10^{-8}

【0079】表2に示されるように、本化合物はLTA₄ ヒドロラーゼ活性を低濃度で顕著に阻害することが認められた。

【0080】

【発明の効果】上記の薬理試験から、本化合物は優れたLTA₄ ヒドロラーゼ阻害作用を有しており、特にLTB₄ が関与する疾患であるリウマチ、乾癬、炎症性腸疾患、痛風、嚢胞性線維症等の炎症性疾患の治療剤として優れたものであることが期待される。

フロントページの続き

(72)発明者 伴 正和
大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19
号 参天製薬株式会社内

(72)発明者 藤村 健一
大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19
号 参天製薬株式会社内

(72)発明者 須原 寛
大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19
号 参天製薬株式会社内